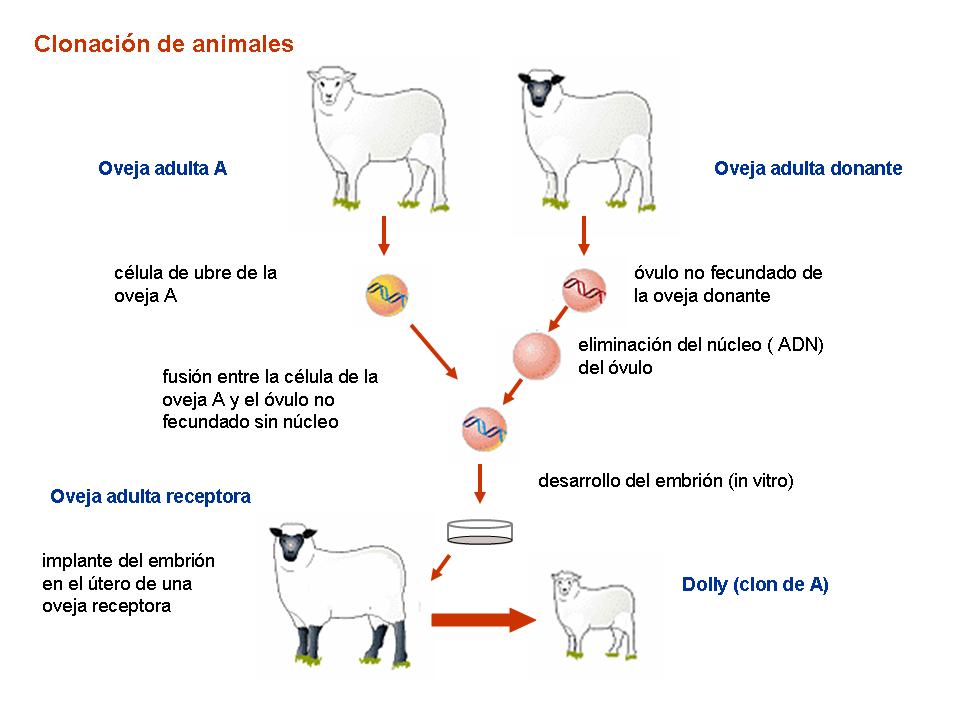
Tema 4 (II). Biotecnología.

1. Biotecnología e ingeniería genética. Pag. 157.

* La biotecnología es la aplicación de los descubrimientos realizados por la Biología al campo de la industria, la sanidad, la alimentación, la agricultura, la ganadería, etc.
* Su finalidades son solucionar problemas de distintas naturaleza (sanitarios, medioambientales, económicos…) y obtener productos de valor comercial (medicamentos, vacunas, alimentos…).
* Distinguimos dos ámbitos:
* Biotecnología tradicional.
  + Acelera artificialmente muchos procesos biológicos.
  + Utiliza microorganismos con fines industriales tales como levaduras para fabricar pan o bebidas alcohólicas o bacterias para obtener yogur o vinagre mediante fermentación.
* Biotecnología actual.
  + Basada en la manipulación del ADN para obtener artificialmente organismos modificados genéticamente
  + Utiliza células y microorganismos modificados o sin alterar (bacterias, virus, células madres, etc.).
  + Se desarrolla gracias a la ingeniería genética que engloba el conjunto de técnicas que permiten manipular el ADN y obtener ADN recombinante.
  + Algunas de sus técnicas más importantes son los cultivos celulares, la clonación y la obtención de organismos transgénicos.

1. La clonación. Pag 162-163.

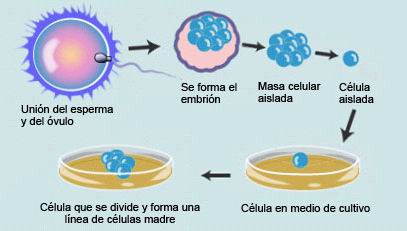
* Es la obtención de elementos clónicos o clones.
* Tradicionalmente un clon es un conjunto de células obtenidas por la reproducción mitótica de una célula inicial. Todas son idénticas entre sí e iguales al progenitor.
* Para la biología molecular un clon es una copia genéticamente exacta de una molécula, una célula, un tejido o un organismo.
* Clonar equivale pues a “copiar genéticamente”. Así clonar un gen es obtener muchas copias del mismo, clonar una célula es obtener un cultivo celular y clonar un ser conseguir una copia del mismo.
* La clonación puede ser reproductiva si genera organismos idénticos o terapeútica si produce moléculas o células iguales con fines curativos.
* Potencialmente podemos realizar clonación reproductiva en mamíferos de dos formas:
* División del embrión.
  + El cigoto y cualquiera de las células que se producen en los primeros días del desarrollo embrionario son células totipotentes pues pueden formar un individuo completo.
  + Si en estos días el embrión se divide en dos grupos celulares se forman gemelos univitelinos.
  + Si transferimos a diferentes úteros varias de estas células totipotentes a partir de embriones obtenidos por fecundación in vitro deberíamos obtener individuos idénticos.
* Transferencia nuclear.
  + Eliminamos el núcleo de un óvulo.
  + Le introducimos el núcleo de una célula del individuo que queremos clonar.
  + Hemos obtenido un cigoto potencial que desarrollamos hasta embrión en un medio de cultivo.
  + Insertamos en un útero y obtendremos un individuo igual al que cedió el núcleo.

[](http://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=images&cd=&cad=rja&docid=P4qOMV1x770CdM&tbnid=96Vs0Zc78kf_CM:&ved=0CAUQjRw&url=http://biologiaygeologia4eso.wordpress.com/page/4/&ei=cc9SUaHHGaqf0QXumoGICA&bvm=bv.44342787,d.ZG4&psig=AFQjCNHWMG68cAYlpsviKeVKzfJapRTnKA&ust=1364467788586927)

¿Cuántas madres tiene Dolly? ¿Qué papel realiza cada una de ellas? Desde el punto de vista genético ¿cuál es la verdadera madre? ¿Por qué?

1. Las células madres.

* Se multiplican ilimitadamente y generan distintos tipos de células especializadas. Su división genera otra célula troncal y una que se especializa.
* Existen dos tipos: embrionarias y adultas.
* Embrionarias.
* Se obtienen de la masa celular interna o blastocisto de embriones tempranos creados por fecundación in vitro y que han sobrado tras el proceso de implantación en el útero materno.
* Estas células se mantienen indefinidamente en cultivos.

[](http://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=images&cd=&cad=rja&docid=ZQVcBtc4x9Ao6M&tbnid=WZ5dA1l4s_zvGM:&ved=0CAUQjRw&url=http://www.monografias.com/trabajos60/celulas-madre-parkinson/celulas-madre-parkinson2.shtml&ei=-dRfUdKoKcGm0QXchYGoBw&bvm=bv.44770516,d.d2k&psig=AFQjCNGjEICdM_IGQGCQOF8vEUGJWsv1Yg&ust=1365321307224822)

* En el ser humano pueden formar cada uno de los 200 tipos celulares que existen. Son por tanto células pluripotentes.



* Si las usamos para implantarlas y reparar un tejido dañado en un paciente suelen producir rechazo ya que no son sus propias células.
* Pero podríamos obtener embriones somáticos por transferencia nuclear a partir de células de nuestro paciente y no implantarlos en ningún útero sino mantenerlos como productores de células madre embrionarias como las suyas con lo que no habría ningún tipo de rechazo.
* Sin embrago eso equivaldría a clonar al paciente y la clonación está prohibida en seres humanos.
* Todo esto puede resultar ilegal o cuestionable pues “¿qué se hace con los embriones que sobran tras realizar fecundación in vitro?”, “¿estamos jugando con vidas potenciales?”…
* Adultas.
* Aparecen en tejidos adultos sometidos a un fuerte desgaste natural como la piel, la mucosa intestinal o la médula ósea roja.
* Pueden formar algunos tipos celulares pero no todos. Son por tanto células multipotentes.

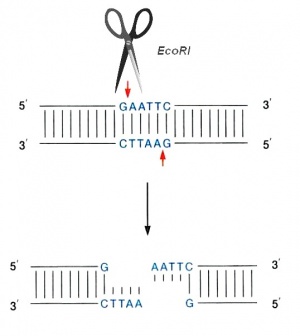


* Las células madre mesenquimales se encuentran en algunos tipos de tejido conjuntivo y debidamente estimuladas pueden regenerar los tejidos óseo, cartilaginoso, muscular e incluso nervioso.
* Estas células pueden proceder del paciente y no producen rechazo ni plantean problemas éticos. Sin embargo no pueden mantenerse en cultivo y son muy difíciles de aislar.
* Son muy útiles las que proceden de la sangre del cordón umbilical pues:
  + Son compatibles con el recién nacido y adaptables a otros miembros de la familia.
  + Se recolectan fácilmente y apenas producen rechazo.
  + Son similares a las de la medula ósea roja.
  + Se conservan mediante crionización.
  + Pueden ser la clave para curar muchas enfermedades degenerativas.
* Actualmente las principales líneas de investigación utilizan células adultas reprogramadas, normalmente fibroblastos procedentes del tejido conjuntivo.
* Estas células son modificadas añadiéndoles ciertos genes y se comportan igual que las células madre embrionarias.

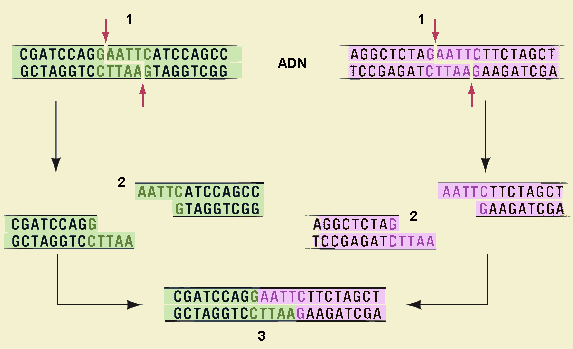


1. La tecnología del ADN. Pag 158 y 159.

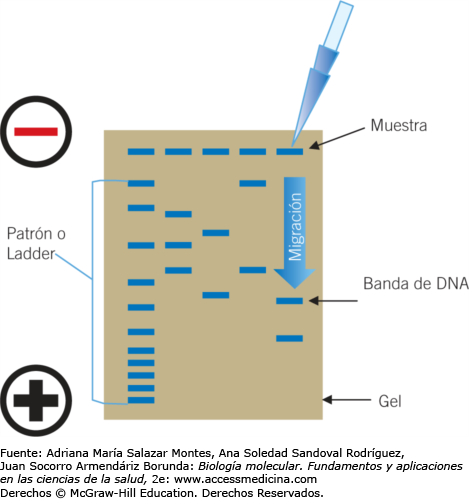
* Incluye todas las técnicas de ingeniería genética que nos permiten crear ADNs donde mezclamos genes de distintos individuos o especies.
* Las más importantes son las siguientes:
  1. Las enzimas de restricción.
* Son enzimas que cortan el ADN por lugares específicos determinados por ciertas secuencias palindrómicas:
  + Iguales en ambas cadenas pero con distinta orientación.
  + Complementarias respecto a un eje.
* Son secuencias pequeñas, no más de seis u ocho pares de bases.
* Cada restrictasa sólo reconoce una secuencia y corta en un lugar concreto.
* Son una herramienta básica en ingeniería genética pues producen fragmentos con extremos cohesivos complementarios entre si.

[](http://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=images&cd=&cad=rja&docid=z3BGijkwRfP0OM&tbnid=8OemnvSnZAvH1M:&ved=0CAUQjRw&url=http://e-ducativa.catedu.es/44700165/aula/archivos/repositorio//3250/3395/html/21_adn_recombinante.html&ei=qOdfUbCeGIHU0QWrt4GQBw&bvm=bv.44770516,d.ZG4&psig=AFQjCNHH5Ly6Pa27YXSyd5KpFjtSrNazjQ&ust=1365325943947720)

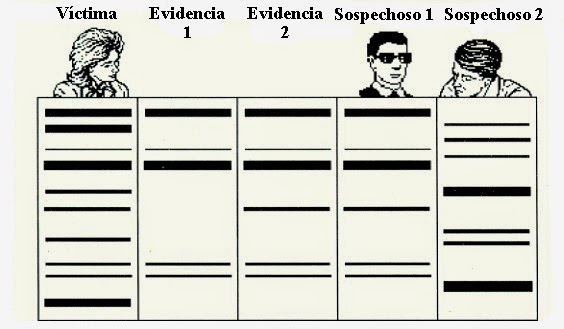
* 1. El ADN recombinante.
* Se obtiene al mezclar fragmentos de ADN de seres distintos que han sido tratados con el mismo enzima de restricción.
* La adición de ADN ligasa permite unir los fragmentos de las moléculas resultantes.

[](http://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=images&cd=&cad=rja&docid=7CwKr0ke8KFePM&tbnid=dvpWCeOSiPJKkM:&ved=0CAUQjRw&url=http://personales.ya.com/geopal/biologia_2b/unidades/ejercicios/act5biointema6.htm&ei=telfUZ7EB6Gz0QWmlYC4Bw&bvm=bv.44770516,d.ZG4&psig=AFQjCNFn-4I2fMBNPuULYY4RoRB8TD02lw&ust=1365326564635858)

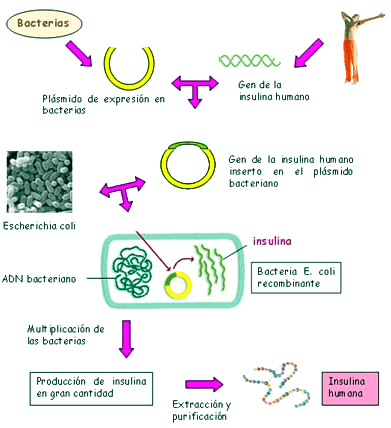
* 1. La electroforesis.
* Las moléculas de ADN tienen cargas eléctricas negativas en los grupos fosfatos.
* Si la situamos en un campo eléctrico serán atraídas por el polo positivo.
* Esta técnica permite separar mezclas de moléculas en una matriz sólida, que puede ser papel o gel, aplicando electricidad y en función de las cargas que estas posean.
* Si tratamos un ADN con una enzima de restricción los fragmentos generados se desplazan en el gel en función de su tamaño, a mayor tamaño menor velocidad, generando un patrón de bandas característico.
* Para “ver” la posición de las distintas bandas de fragmentos añadimos bromuro de etidio, que unido al ADN es fluorescente al iluminar con luz ultravioleta.
* La posición de cada banda indica el número de pares de bases que posee el fragmento.



* 1. La PCR.
* Es una reacción en cadena de la polimerasa y permite obtener muchas copias de una muestra o de un fragmento de ADN.
* Se realiza a alta temperatura para que el ADN esté desnaturalizado y se copie más fácilmente.
* Las enzimas son proteínas y también se desnaturalizan mediante el calor por ello se usa la polimerasa de una bacteria termófila llamada *Thermus acuaticus.*
* La reacción amplifica la muestra produciendo cantidades aptas para aplicar otras técnicas.
* El material de partida puede ser una cantidad ínfima extraída de un pelo, restos de células epiteliales, etc.
  1. La huella genética o prueba del ADN.
* Conjunto de fragmentos de ADN que caracterizan a un individuo y lo diferencian de los demás.
* El proceso para obtenerla es el siguiente:
  + Obtención de muestra. Sangre, saliva, semen, pelo, etc.
  + Amplificación mediante PCR.
  + Tratamiento con restrictasa.
  + Electroforesis en gel.
  + Patrón de bandas específico.
* Las principales aplicaciones en medicina legal son:
  + Prueba de paternidad. Se requiere un porcentaje de semejanza entre padre e hijo.
  + Autoría de un delito. Se comparan las huellas de los sospechosos con muestras obtenidas en el lugar del suceso y usando la misma enzima de restricción (pelo, células epidérmicas, mancha de sangre, semen extraído, etc.).



* 1. La hibridación de ácidos nucleicos.
* El ADN se desnaturaliza totalmente cuando en disolución acuosa se somete a temperaturas superiores a 80º C.
* Cuando la temperatura disminuye las hebras se reasocian y el ADN se renaturaliza.
* La hibridación se produce entre dos moléculas cualesquiera de ácidos nucleicos que posean cierto grado de complementariedad.
* Cuanto mayor sea el porcentaje de hibridación entre dos especies distintas menor será su distancia evolutiva.
* Utilizado para establecer relaciones filogenéticas.
  1. Los vehículos de clonación.
* Permiten introducir fragmentos de ADN en bacterias u otro tipo de células.
* Una vez que el gen extraño está en la bacteria se originan millones de éstas que portan una copia del mismo. Así clonamos un gen.
* Los principales vehículos de clonación son los plásmidos y los virus.
* Los plásmidos son pequeñas moléculas circulares de ADN que contiene genes propios no vitales para la bacteria.
* Veamos cómo podemos clonar el gen de la insulina humana en la bacteria *E. coli.*
  + Usaremos un plásmido que porta un gen de resistencia al antibiótico ampicilina. (Amp +). Esto permite seleccionar las bacterias que lo hayan adquirido.
  + Tratamos el plásmido y el ADN humano con la misma restrictasa.
  + Localizamos el fragmento humano que incluye el gen de la insulina usando una sonda radioactiva.
  + Mezclamos tal fragmento con el plásmido para obtener el ADN recombinante.
  + Añadimos a las bacterias el plásmido y este entrará en algunas mediante transformación.
  + Añadimos ampicilina al cultivo y las que sobreviven son las que portan el gen de la insulina.
  + Tras varias generaciones obtenemos un clon bacteriano productor de insulina humana.
  + Tales bacterias expulsan a su medio líquido de cultivo, contenido en un biorreactor, la insulina humana que nosotros aislaremos para utilizarla cómo medicamento.
* Para clonar con virus el proceso es el siguiente:
  + Sometemos el virus a alta temperatura para descomponer la càpsida proteica y aislar el ADN.
  + Obtenemos ADN recombinante a partir del ADN vírico y el que queremos introducir.
  + Añadimos las proteínas de la cápsida para producir el autoensamblaje del virus.
  + Añadimos los virus a las células.
  + El ADN recombinante se incorpora al genoma celular y se expresan los genes transportados.



1. El Proyecto Genoma Humano. Pag. 164.

* Su finalidad es conocer la secuencia y ubicación de todos los genes contenidos en los 23 cromosomas humanos.
* Para coordinarlo se creó en 1988 la HUGO (Organización del Genoma Humano).
* El proyecto se inició en 1990 y en junio de 2000 se presentó el primer borrador. En 2003 ya contábamos con un mapa genético completo.
* Sus conclusiones son:
  + Nuestra secuencia cuenta con más de 3000 millones de pares de bases que originan unos 25.000 genes.
  + Alrededor del 50% del genoma está constituido por secuencias repetitivas de función desconocida (ADN basura)
  + La diferencia entre dos seres humanos es sólo del 01%.

1. Aplicaciones de la ingeniería genética. Pag 160-161.

* 1. Obtención de sustancias terapéuticas.
* Clonación de genes humanos en plásmidos de E. coli.
  + Interferón. Sustancia que producen las células humanas en muy poca cantidad y que sirve para tratar infecciones víricas y algunos tipos de cáncer.
  + Insulina. Utilizamos la producida de esta forma desde 1982. Antes se usaba la de origen porcino o bovino.
  + Hormona del crecimiento.
* Obtención de vacas transgénicas y aislamiento del producto de la leche.
  + - Factor de coagulación VII.
      * Utilizado para tratar la hemofília.
      * Inyectar virus con el gen adecuado en glándulas mamarias (sólo una generación).
      * Inserción del virus vector en células embrionarias e implantación del embrión en un útero (heredable).
* 2. Terapia génica.
* Tratar una enfermedad introduciendo genes funcionalmente correctos que sustituyen, contrarrestan o bloquean el gen defectuoso.
* Tratamiento “ex vivo”. Surge en 1990 para tratar inmunodeficiencias a niños burbujas.
  + Sus linfocitos no funcionan correctamente.
  + Se extrajeron algunos de ellos.
  + Se reprograman usando un retrovirus como vector.
  + Se implantan en la médula ósea donde se multiplican de forma natural.
  + Actualmente existen programas de investigación muy avanzados pero se plantean las siguientes dificultades:
    - Encontrar la forma de actuar sólo en células dianas.
    - Lograr la integración estable del gen correcto.
    - Que dicho gen se exprese correctamente.
* Tratamiento “in vivo”. Realizado por primera vez en 2006 con 12 enfermos de Parkinson.
* Se les introdujo un adenovirus portador de un gen que estimula la producción de un neurotransmisor perforando el cráneo con una cánula y usando anestesia local. Al poco tiempo mejoraron sensiblemente el control de los movimientos.
* En 2008 se realizó otro ensayo “in vivo” para tratar un tipo de ceguera. Se inyectaron directamente el ojo de los pacientes virus de resfriado que contenían el gen correcto y la visión mejoró.
* El actual reto es introducir en un paciente con cáncer un virus portador de un gen que autodestruya las células cancerígenas, las cuales tienen igual tipo de diana pero pueden estar diseminadas por todo el cuerpo. De esta forma sería posible vencer al cáncer.
* 3. Diagnóstico prenatal.
* Se realiza antes de nacer y permite detectar la presencia de enfermedades congénitas en el nuevo individuo.
* Se utiliza ante la sospecha de que pueda padecerla por antecedentes familiares y permite seleccionar embriones sanos obtenidos por fecundación in vitro.
* El proceso es el siguiente:
  + Construcción de una sonda fluorescente complementaria del ADN erróneo que dé lugar a la enfermedad.
  + Realizar amniocentesis (conseguir mediante laparoscopia células que flotan en el líquido amniótico) u obtener células embrionarias.
  + Amplificar, tratar con restrictasa y realizar electroforesis.
  + Hibridar con la sonda.
    - Si la hibridación es + el individuo probablemente desarrollará la enfermedad.
    - Si es – seguramente será sano.
  + Decisión de continuidad.
* 4. Obtención de OGM. Pag 161.
* 5. Biorremediación. Pag 161.

1. La bioética. PaG. 165.

* En 1947 y tras la Segunda Guerra Mundial, debido a los experimentos realizados por los nazis con seres humanos, se promulgó el Código de Nuremberg que impone normas y limita este tipo de situaciones.
* En 1964 la Declaración de Helsinki define los principios de la investigación médica.
* A finales de los años 60 surge la bioética que se define como la aplicación de la ética a las ciencias de la vida y señala las obligaciones morales del ser humano con respecto al mundo vivo.
* En 1997 la UNESCO aprueba la Declaración Universal sobre el Genoma y los Derechos Humanos.
* En España se firmó en 1997 en Convenio de Oviedo y en 2007 la Ley de Investigación Biomédica.